บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลองซึ่งแสดงในรูปที่ 10-17 และตารางที่ 3-6 แสดงให้เห็นว่ายีสต์ทั้ง 8 สายพันธุ์ที่แยกได้เป็นยีสต์คนละสายพันธุ์ และควรมีการทดลองเพิ่มเติมเพื่อยืนยันว่ายีสต์ที่แยกได้เป็น *Torulopsis* sp. และ *Candida* spp. ในปัจจุบันมีวิธีรวดเร็ว(rapid methods) ที่จำแนกชนิดของยีสต์ถึงระดับสายพันธุ์ ตัวอย่างเช่นทางด้านการแพทย์ Lee และคณะ (1986) ใช้ *Candida albican* NCTC 3153 เป็นแอนติเจนในการผลิตแอนติบอดี้เพื่อนำมาใช้ในระบบ ELISA ในการตรวจ *C. albican* จำนวน 190 ไอโซเลตที่พบในหน่วยไอซียูของโรงพยาบาลลอนดอน ดังนั้นในด้านอุตสาหกรรมควรมีการวิจัยใช้เทคโนโลยีใหม่ที่รวดเร็วและเชื่อถือได้ ในการจำแนกและยืนยันสายพันธุ์ของยีสต์ เช่นวิธี RAPD-PCR fingerprinting(Welsh & McClelland,1990) เป็นต้น โดยมีตัวอย่างการจำแนกชนิดระหว่างเชื้อราที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม ได้แก่การจำแนก *Aspergillus sojae* ออกจาก *Aspergillus parasiticus* เป็นต้น(Yuan et al.,1995) ในการทดลองครั้งนี้ตรวจพบเบื้องต้นว่ามี *Candida* spp. อยู่ 7 สายพันธุ์ ดังนั้นเพื่อความก้าวหน้าทางด้านอนุกรมวิธานของยีสต์ จึงควรมีการนำมาทดลองใช้ในการหาวิธีที่รวดเร็วและเชื่อถือได้ในการจำแนกชนิดของ *Candida* spp. นอกจากนี้ถึงแม้ว่า *Candida* spp. เหล่านี้จะสังเคราะห์ไบโอตินในปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับ *Torulopsis* sp.(รูปที่ 10) ก็อาจนำมาทดลองผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาเศรษกิจของประเทศได้

ผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 30,31,32 แสดงให้เห็นว่าระยะการเจริญของกล้าเชื้อของยีสต์ทุกสายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ Y1 และ Y10 ไม่มีผลต่อการเจริญ และการสังเคราะห์ไบโอติน ผลการทดลองนี้ขัดแย้งกับผลการทดลองของ Niimura และคณะ(1964) ซึ่งพบว่าเซลตั้งต้นในระยะ stationary phase มีผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์ไบโอตินใน *Saccharomyces cerevisiae* ตามปกติการสังเคราะห์ไบโอตินน่าจะเป็นแบบการสังเคราะห์ primary product ซึ่งจะสังเคราะห์ไบโอตินมากในระยะ mid log phase อย่างไรก็ตาม

ยีสต์เซลตั้งต้นที่อยู่ในระยะ stationary phase อาจมีปริมาณไบโอตินเพียงพอที่จะเพิ่มจำนวนและสังเคราะห์ไบโอติน ดังนั้นในการทดลองใช้ยีสต์ชนิดต่างๆผลิตไบโอติน ควรทำการทดลองเพื่อหาระยะการเจริญที่เหมาะสมของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่จะใช้

ผลการเลี้ยงยีสต์ทั้ง 8 สายพันธุ์ ในทั้งระดับขวดเขย่าที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีกรดนิมีลิคที่ความเข้มข้นต่างๆพบว่า กรดนิมีลิคที่ความเข้มข้น 0.05% มีผลอย่างชัดเจนต่อการเจริญและการสังเคราะห์ไบโอตินของยีสต์บางสายพันธุ์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดนิมีลิค ค่า μ และความสามารถในการสังเคราะห์ไบโอตินลดลง ในขณะที่กรดนิมีลิคไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ไบโอตินของยีสต์บางสายพันธุ์ (รูปที่ 27) ผลการทดลองนี้เป็นเช่นเดียวกับผลการทดลองที่รายงานโดย Pearson(1986) ซึ่งพบว่ากรดนิมีลิคมีผลทางด้านลบและบวกและอาจไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ไบโอติน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาพันธุกรรมของยีสต์ชนิดต่างๆ ซึ่งกรดนิมีลิคอาจมีผลทางด้านบวกหรือด้านลบหรือไม่มีผลต่อการสังเคราะห์ไบโอติน เป็นที่น่าสังเกตุว่าความสามารถในการเจริญของยีสต์ในสภาวะที่เป็นกรด มีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการผลิตไบโอตินในสภาวะซึ่งเป็นกรด ซึ่งเนื่องมาจากการเติมกรดนิมีลิค

ผลการทดลองในรูปที่ 28, 29, 30 แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองในระดับขวดเขย่าและในระดับถังหมักใกล้เคียงกัน โดย *Torulopsis* sp. ซึ่งผลิตไบโอตินในปริมาณสูง ยังผลิตไบโอตินได้ในปริมาณไม่มากนัก เมื่เทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆดังรายงานในตารางที่ 7 ดังนั้นจึงควรมีการวิจัยปรับปรุงสายพันธุ์และสภาวะการเลี้ยงเชื้อในระดับขวดเขย่า และในระดับถังหมัก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์ไบโอติน นอกจากนี้ควรมีการศึกษาผลของกรดนิมีลิคต่อโครงสร้างอย่างละเอียดภายในเซลของยีสต์และต่อระบบเอ็นไซม์ในวิถีการสังเคราะห์ไบโอตินด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์(Pearson, et al.,1986)

ยีสต์	ไบโอติน(นก.มล.$^{-1}$)	
	ไม่เติมกรดพิมีลิค	เติมกรดพิมีลิค 0.1%
Bullera alba NCYC 781	1.07	5.47
Cryptococcus luteolus NCYC 591	1.00	0.90
Pichia farinosa NCYC 386	0.00	0.26
Pichia farinosa NCYC 815	0.30	0.64
Pichia farinosa NCYC 937	0.66	0.70
Rhodosporidium diobovatum NCYC 779	0.43	12.90
Rhodosporidium toruloides NCYC 921	0.57	6.55
Rhodosporidium toruloides NCYC 979	0.73	13.20
Rhodosporidium glutinis NCYC 62	2.09	9.29
Rhodosporidium glutinis NCYC 539	0.15	8.00
Rhodosporidium glutinis NCYC 844	0.24	4.32
Rhodosporidium glutinis NCYC 930	3.90	11.50
Rhodosporidium glutinis NCYC 931	0.36	1.08
Rhodotorura rubra NCYC 63	0.45	9.07
Rhodotorura rubra NCYC 64	8.06	10.90
Rhodotorura rubra NCYC 65	4.18	14.30
Rhodotorura rubra NCYC 158	0.72	1.08
Rhodotorura rubra NCYC 159	3.60	12.80
Rhodotorura rubra NCYC 758	4.18	8.64
Rhodotorura rubra NCYC 796	5.33	11.60
Rhodotorura rubra NCYC 797	3.10	6.30

ยีสต์	ไบโอติน(นก. $มล.^{-1}$)	
	ไม่เติมกรดพิมีลิค	เติมกรดพิมีลิค 0.1%
Sporobolomyces pararoceus NCYC 422	4.40	11.50
Sporobolomyces pararoceus NCYC 1443	10.40	8.64
Sporobolomyces roseus NCYC 1463	0.73	15.40
Sporobolomyces salmonicolor NCYC 424	7.60	10.80
Sporobolomyces salmonicolor NCYC 891	7.60	7.50
Yarrowia lipolytica NCYC 376	0.00	0.00
Yarrowia lipolytica NCYC 1421	0.26	0.22

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย